Product sheet

Клетки Neuro2a-Luc | 305690

Обща информация

Description	Neuro-2a-Luc е производна на мишия невробластомния клетъчен линия Neuro-2a (N2a), изразяваща луциферазa. Клетките Neuro-2a произхождат от тъкан на миши невробластом, произлязла от невралния гребен, и се използват широко като in vitro модел за невронна диференциация, проучвания на невротоксичността, изследвания на сигналната трансдукция и невроонкологични изследвания. Стабилната експресия на луциферазен репортер позволява чувствително, количествено биолуминесцентно откриване на жизнеспособни клетки и клетъчна активност, което прави Neuro-2a-Luc особено полезен за проследяване във времето както в експериментални системи in vitro, така и in vivo. В зависимост от дизайна на репортера, експресията на луциферазата може да бъде конститутивна или свързана с активността на промотор, специфичен за даден сигнал. Клетките Neuro-2a-Luc се използват често в приложения, свързани с проследяване на туморен растеж, скрининг на лекарства с висока производителност, тестове за невронна диференциация и оценка в реално време на терапевтичните реакции. В модели на ксенографти и метастази биолуминесцентната визуализация на базата на луциферазa позволява неинвазивно наблюдение на туморното натоварване и прогресията на заболяването с висока чувствителност. Системите, произведени от Neuro-2a, се използват широко и за изучаване на невронната морфология, израстването на невритите, апоптозата, оксидативния стрес и механизмите, свързани с невродегенеративните заболявания. Модификацията с луциферазa улеснява бързия количествен анализ на клетъчната пролиферация, цитотоксичността, транскрипционната активност или модулацията на пътеките в отговор на фармакологични или генетични смущения. Както и при другите инженерни репортерни клетъчни линии, експерименталната ефективност на Neuro-2a-Luc може да зависи от фактори, включително мястото на интеграция на луциферазния конструкт, конфигурацията на промотора, съвместимостта на субстрата и стабилността на репортерната експресия при серийни пасажи. За високоспециализирани експериментални приложения може да са необходими допълнителни данни за характеристика, включително подробности относно варианта на луциферазата, маркера за селекция и тестовете за валидиране.
Organism	Мишка
Tissue	Периферна нервна система
Disease	Невробластом
Synonyms	Neuro2A-Luc

Характеристики

Gender	Мъжки
Cell type	Невронални и амебоидни стволови клетки

Клетки Neuro2a-Luc | 305690

Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Neuro-2a-Luc (каталожен номер на Cytion: 305690)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_K046
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луциферазa от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Luc
Antigen expression	H-2a
Viruses	Вирус на ектромелия (миша едра шарка): отрицателен
Virus resistance	Полиовирус 1
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Тубулин, ацетилхолинестераза

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Клетки Neuro2a-Luc | 305690

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	от 1 до 3×10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.

7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ